

**PCT**WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> : G01N 30/48, B01D 15/08, 15/02		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 98/58253</b>  (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 23. Dezember 1998 (23.12.98)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/03546  (22) Internationales Anmeldedatum: 12. Juni 1998 (12.06.98)  (30) Prioritätsdaten: 197 25 639.2 18. Juni 1997 (18.06.97) DE 197 26 151.5 20. Juni 1997 (20.06.97) DE 197 26 152.3 20. Juni 1997 (20.06.97) DE 198 01 575.5 19. Januar 1998 (19.01.98) DE  (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE).  (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): CABRERA, Karin [DE/DE]; Mühlweg 14, D-63303 Dreieich (DE). LUBDA, Dieter [DE/DE]; Im Bangert 21c, D-64625 Bensheim (DE). SCHULTE, Michael [DE/DE]; Im großen Ramsee 20, D-65428 Rüsselsheim (DE). MEUDT, Andreas [DE/DE]; An der Herrenwiese 121, D-60529 Frankfurt (DE). LUDE- MANN-HOMBOURGER, Olivier [FR/FR]; 15, rue du Bois de la Champelle, F-54502 Vandoeuvre-lès-Nancy (FR). WIELAND, Gerhard [DE/DE]; Im Bangert 19, D-64625 Bensheim (DE). CZERNY, Kristina [DE/DE]; Kastanien- weg 33, D-64331 Weiterstadt (DE). DELP, Axel [DE/DE];		Bahnhofstrasse 29, D-64407 Fränkisch-Crumbach (DE). DICKS, Edith [DE/DE]; Eberstädter Kirchstrasse 16, D-64297 Darmstadt (DE). KRAUS, Alexander [DE/DE]; Wilhelm-Leuschner-Strasse 15, D-64347 Griesheim (DE).  (74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH; D-64271 Darmstadt (DE).  (81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>	
(54) Title: USE OF MONOLITHIC SORBENTS FOR PREPARATIVE CHROMATOGRAPHIC SEPARATION			
(54) Bezeichnung: VERWENDUNG MONOLITHISCHER SORBENTIEN FÜR PRÄPARATIVE CHROMATOGRAPHISCHE TREN- NVERFAHREN			
(57) Abstract  The invention relates to use of monolithic sorbents for preparative separation processes, specially for processes according to the simulated moving bed (SMB) principle.			
(57) Zusammenfassung  Es wird die Verwendung von monolithischen Sorbentien für präparative Trennverfahren, insbesondere für Trennverfahren nach dem "simulated moving bed"-Prinzip (SMB) offenbart.			

### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

**Verwendung monolithischer Sorbentien  
für präparative chromatographische Trennverfahren**

- 5 Die Erfindung betrifft die Verwendung von monolithischen Sorbentien, insbesondere solche, die Separationseffektoren enthalten, für präparative chromatographische Trennverfahren, sowie Verfahren zur präparativen chromatographischen Trennung mindestens zweier Substanzen unter Verwendung monolithischer Sorbentien.
- 10 Das Ziel bei präparativen chromatographischen Trennverfahren ist die Isolierung der aufgereinigten Substanz. Im Gegensatz dazu sind analytische chromatographische Trennverfahren auf hohe Selektivität bei geringer Bandenbreite ausgerichtet. Analytische Verfahren dienen nicht zur Isolierung der Substanz, allenfalls schließen sich zusätzliche Analysen-
- 15 verfahren (z.B. Massenspektrometrie, UV/VIS-Spektrometrie) dem Trennverfahren an. Für präparative chromatographische Trennverfahren ist der optimale Kompromiß zwischen chromatographischer Auflösung und Produktivität wesentlich.
- 20 Für die Wirtschaftlichkeit von präparativen Stofftrennungen sind die Erzielung hoher Flußraten, kurzer Elutionszeiten und die Einhaltung moderater Betriebsdrücke wesentliche Faktoren. Die Trennleistung einer chromatographischen Säule wird durch die Bodenhöhe (bzw. die Bodenzahl pro Meter) gekennzeichnet. Die Zusammenhänge mit
- 25 Strömungs- und Diffusionsvorgängen wird durch die van Deemter Gleichung beschrieben. Vergrößert man den Durchmesser der Sorbenspartikel, so verringert sich die Bodenzahl und es muß die Säulenlänge vergrößert werden, um die Trennleistung nicht zu verringern. Wird der Durchmesser der Sorbenspartikel vergrößert, so
- 30 wird die Bodenzahl in stärkerem Maße abhängig von der Flußrate. Somit ist in vielen Fällen die erreichbare chromatographische Trenn-

leistung im hohen Maße abhängig von der gewählten Flußrate (steile  $H(u)$ -Kurve). Die genannten Zusammenhänge sind dem Fachmann grundsätzlich bekannt und in Handbüchern wie z.B. "Handbuch der HPLC" (K.K. Unger, ed.; GIT-Verlag, Darmstadt, DE) beschrieben.

- 5 Im Gegensatz dazu wurde festgestellt, daß bei der erfindungsgemäßen Verwendung von monolithischen Sorbentien der Porendurchmesser der Makroporen variiert werden kann, ohne daß die Dimension der zwischen den Makroporen befindlichen skeletonphase variiert werden muß. Dadurch kann der Druckabfall durch  
10 Wahl eines Sorbens mit größeren Makroporen verringert werden, während die erhöhte Flußrate die Trennleistung kaum beeinflußt.

- Bei präparativen Stofftrennungen haben Gegenstromverfahren an Bedeutung gewonnen. Da es technisch nur sehr schwer möglich ist,  
15 eine tatsächliche Bewegung einer stationären Phase zu realisieren, wird die Bewegung der stationären Phase simuliert. Dazu wird das gesamte Säulenbett in zyklisch hintereinandergeschaltete Einzelsäulen unterteilt. Die Gesamtzahl der Säulen ist typischerweise ein Vielfaches von vier, da ein solches System vier chromatographische  
20 Zonen besitzt. Nach einer definierten Zeit werden die Leitungen umgeschaltet, wodurch eine Bewegung des Säulenbettes in der entgegengesetzten Richtung simuliert wird. Nähere Erläuterungen zur Wirkungsweise der SMB-Chromatographie finden sich beispielsweise in WO 97/47 617 Für das kontinuierliche Verfahren der "simulated  
25 moving bed"- Chromatographie (SMB-Chromatographie) werden üblicherweise als Trennmaterialien partikuläre Sorbentien verwendet. Die dabei verwendeten Säulenpackungen lassen keine optimalen Flußraten zu, da der Betriebsdruck bei partikulären Trägern sehr hoch ist. Auch ist die mechanische Stabilität der partikulären Sorbensbetten nicht  
30 sehr gut. Weiterhin ist es für die SMB-Chromatographie notwendig, eine Reihe chromatographischer Säulen (typischerweise bis zu 24) mit möglichst gleichen Eigenschaften bereitzustellen. Dies ist bei partikulären

Sorbensbetten nur mit großem Aufwand beim Packen der Säulen und bei der Auswahl der gepackten Säulen realisierbar.

5 Aufgabe der Erfindung ist es, chromatographische präparative Trennverfahren, insbesondere für die SMB-Verfahren bereitzustellen, die bei moderatem Betriebsdruck hohe Flußraten aufweisen.

10 Es wurde gefunden, daß monolithische Sorbentien für Trennverfahren mit hohen Flußraten eingesetzt werden können; somit kann ein höherer Durchsatz pro Zeiteinheit, d.h. eine verbesserte Produktivität erzielt werden. Die nach erfindungsgemäßen Trennverfahren unter Verwendung von monolithischen Sorbentien erreichbare Produktivität ist typischerweise um eine Größenordnung höher als bei Trennverfahren unter Verwendung von partikulären Sorbentien.

15 Gegenstand der Erfindung sind Verfahren zur präparativen chromatographischen Trennung mindestens zweier Substanzen, insbesondere nach dem SMB-Verfahren, wobei als stationäre Phase ein monolithisches Sorbens auf der Grundlage von Formkörpern aus  $\text{SiO}_2$ , deren Makroporen Durchmesser zwischen 2 und 20  $\mu\text{m}$  aufweisen, und deren Mesoporen Durchmesser zwischen 2 und 100 nm aufweisen (jeweils Medianwerte),  
20 verwendet wird.

25 Die Abbildungen 1 und 2 zeigen Trennungen von Toluol, 2- und 3-Nitroacetanilid an zwei unmodifizierten monolithischen Sorbentien mit unterschiedlicher Porenweite der Makroporen, hergestellt nach PCT/EP97/06 980; experimentelle Einzelheiten: siehe Beispiel B1. Abbildung 3 zeigt die Trennung der Enantiomeren von 2,2,2-Trifluor-1-anthrylethanol auf dem  
30 nach Beispiel A3 hergestellten chiralen monolithischen Sorbens (Pirkle-type); experimentelle Einzelheiten: siehe Beispiel B4. Abbildung 4 zeigt die Trennung von racemischem Cromakalim an einem Sorbens, das  $\beta$ -

- Cyclodextrin chemisch gebunden enthält (Herstellung siehe Beispiel A5; experimentelle Einzelheiten siehe Beispiel B6). Abbildung 5 zeigt eine präparative Trennung eines Testgemisches aus Toluol, 2-Nitroacetanilid und 3-Nitroacetanilid bei unterschiedlichen Fließgeschwindigkeiten der mobilen Phase (Abb. 5a: 40 ml/min; Abb. 5b: 130 ml/min; Abb. 5c: 200 ml/min). Experimentelle Einzelheiten sind in Beispiel B9 beschrieben. Abbildung 6 zeigt die Trennung von Dimethylphthalat/Dibutylphthalat an einer C<sub>18</sub>-RP-Phase. Experimentelle Einzelheiten sind in Beispiel B10 beschrieben. In der Abbildung 7 sind Elutionsdiagramme von Trennungen verschiedener Vitamine der Vitamin K Gruppe dargestellt:
- a) erfindungsgemäße Trennung (isokratisch, Flußgradienten-Chromatographie unter Verwendung eines monolithischen Sorbens);
  - b) isokratisch unter Verwendung eines monolithischen Sorbens;
  - c) isokratisch unter Verwendung eines partikulären Sorbens.
- Die Teildarstellungen b) und c) dienen dem Vergleich. Experimentelle Einzelheiten sind in Beispiel B11 beschrieben.

- Monolithische Sorbentien sind grundsätzlich aus der Literatur bekannt; dazu gehören vor allem poröse keramische Formkörper, wie sie in WO 94/19 687 und in EP 0 710 219 offenbart sind. Besonders bevorzugt sind monolithische Sorbentien auf der Grundlage von porösen Formkörpern, die untereinander verbundene Makroporen sowie Mesoporen in den Wänden der Makroporen aufweisen, wobei der Durchmesser der Makroporen einen Medianwert größer als 0,1 µm aufweist, und wobei der Durchmesser der Mesoporen einen Medianwert von 2 und 100 nm aufweist. Allerdings sind nach den in den genannten Druckschriften offenbarten Herstellungsverfahren in reproduzierbarer Weise nur poröse keramische Formkörper mit einem Durchmesser von ca. 5 mm oder darunter zugänglich. Eine ähnliche Einschränkung gilt für den Bereich der Makroporen, der nach den in den genannten Druckschriften offenbarten Herstellungsverfahren in reproduzierbarer Weise nur mit Makroporen bis

ca. 1 µm Durchmesser zugänglich sind. Für präparative Anwendungen sind größere Formkörper (Durchmesser ca. 1 cm oder größer) mit weiteren Makroporen bevorzugt zu verwenden. Derartige verbesserte poröse Formkörper sind insbesondere nach Verfahren zugänglich, wie sie in der

5 Patentanmeldung PCT/EP97/06 980 offenbart sind. Diese Verfahren erlauben die reproduzierbare Herstellung von größeren Formkörpern mit weiteren Makroporen. Insbesondere sind monolithische Sorbentien auf der Grundlage von porösen Formkörpern, deren Makroporen Durchmesser

10 zwischen 2 und 20 µm, insbesondere zwischen 5 und 20 µm, aufweisen (jeweils Medianwerte), und deren Mesoporen Durchmesser zwischen 2 und 100 nm (Medianwerte) aufweisen. Besonders bevorzugt sind erfindungsgemäß monolithische Sorbentien auf der Grundlage von porösen Formkörpern, deren Makroporen Durchmesser zwischen 10 und 20 µm aufweisen (jeweils Medianwerte), und deren Mesoporen Durchmesser

15 zwischen 2 und 100 nm (Medianwerte) aufweisen..

Erfindungsgemäß verwendete monolithische Sorbentien bestehen aus anorganischen Materialien, wie sie für partikuläre Sorbentien im Gebrauch sind. In vielen Fällen (z.B. SiO<sub>2</sub>) können diese Sorbentien ohne weiteres

20 für chromatographische Trennungen verwendet werden. Häufiger jedoch werden die Basisträger derivatisiert, um die Trenneigenschaften zu verbessern; dabei werden zusätzliche Gruppierungen eingeführt, die unter der Bezeichnung Separationseffektoren zusammengefaßt werden.

25 Separationseffektoren und Verfahren zu ihrer Einführung in den Basisträger sind dem Fachmann grundsätzlich bekannt. Beispiele für Reaktionen, mit denen Separationseffektoren eingeführt werden können, sind:

a) Die Derivatisierung mit Silanderivaten der Formel I

30  $\text{SiX}_n\text{R}^1_{(3-n)}\text{R}^2$

I

worin

X eine reaktive Gruppe, wie z.B. Methoxy, Ethoxy oder Halogen,

R<sup>1</sup> C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> -Alkyl,

n 1, 2 oder 3

5 bedeuten und

R<sup>2</sup> eine der im folgenden angegebene Bedeutungen besitzt:

a1) unsubstituiertes oder substituiertes Alkyl oder Aryl, wie z.B.

n-Octadecyl, n-Octyl, Benzyl- oder Cyanopropyl;

a2) anionische oder saure Reste, wie z.B. Carboxypropyl;

10 a3) kationische oder basische Reste, wie z.B. Aminopropyl,

Diethylaminopropyl oder Triethylammoniumpropyl;

a4) hydrophile Reste, wie z.B. (2,3-Dihydroxypropyl)-oxypropyl;

a5) bindungsfähige aktivierte Reste, wie z.B.

(2,3-Epoxypropyl)-oxypropyl.

15

b) Die Adsorption oder chemische Bindung von Polymeren wie Polybutadien, Siloxanen, Polymeren auf der Grundlage von Styrol/ Divinylbenzol, von (Meth)acrylsäurederivaten oder von anderen Vinylverbindungen, sowie von Peptiden, Proteinen, Polysacchariden und Polysaccharidderivaten an dem Basisträger;

20

c) Die chemische Bindung von unter b) genannten Polymeren über die unter a) genannten Derivate; dazu gehören Pfropfpolymerisate von Poly(meth)acrylsäurederivaten auf diolmodifiziertem Kieselgel nach EP-B-0 337 144.

25

d) Die Adsorption oder chemische Bindung von chiralen Phasen, wie z.B. von Aminosäurederivaten, Peptiden oder Proteinen, oder von Cyclo-dextrinen, Polysacchariden oder Polysaccharidderivaten.

30

Weitere gebräuchliche Derivatisierungsmöglichkeiten und Derivatisierungsverfahren sind dem Fachmann bekannt und in gängigen Handbüchern wie



Unger, K.K. (ed) Porous Silica, Elsevier Scientific Publishing Company (1979) oder Unger, K.K. Packings and Stationary Phases in Chromatographic Techniques, Marcel Dekker (1990) beschrieben.

- 5 Weitere Beispiele für verschiedene Separationseffektoren und für Verfahren, die Separationseffektoren in monolithische Sorbentien einzuführen, sind in den folgenden Druckschriften genannt:
- 10 a) Aus DE 38 11 042 sind unter anderem Monomere bekannt, die zur Herstellung von Ionenaustauschern geeignet sind; dazu gehören beispielsweise Acrylsäure, N-(Sulfoethyl)-acrylamid, 2-Acrylamido-2-methylpropan sulfonsäure, N,N-Dimethylaminoethyl-acrylamid, N,N-Diethylaminoethyl-acrylamid, sowie Trimethylammoniummethyl-acrylamid.
- 15 Andere in dieser Druckschrift genannte Monomere erlauben die Bindung von Affinitätsliganden oder von Enzymen, oder eignen sich für reversed phase Chromatographie: dazu gehören beispielsweise Acrylsäure, Acrylamid, Allylamin oder Acrylnitril.
- 20 b) Aus DE 43 10 964 sind Monomere bekannt, die einen Oxiranring, einen Azlactonring oder eine Gruppierung enthalten, die in einen Azlactonring umgesetzt werden kann. Polymere, die derartige Monomere enthalten, sind besonders gut für die Bindung von Affinitätsliganden oder von Enzymen geeignet. Affinitätsliganden sind beispielhaft in DE 43 10 964
- 25 offenbart.
- Weiterhin können die Epoxidgruppen in derartigen Polymeren in vorteilhafter Weise weiter umgesetzt werden, wodurch Ionenaustauscher, thiophile Sorbentien oder Sorbentien für die Metallchelate- oder die hydrophobe Chromatographie bereitgestellt werden. Dabei werden bei-
- 30 spielsweise Phosphorsäure, Ammoniak, Diethylamin, Trimethylamin, schweflige Säure oder auch Komplexbildner wie Iminodiessigsäure an den Oxiranring addiert.

Die Herstellung von thiophilen Sorbentien und von Sorbentien für die Metallchelatchromatographie ist in DE 43 10 964 offenbart.

5 In DE 43 33 674 und in DE 43 33 821 sind derartige Umsetzungen, mit derer Hilfe Ionenaustauscher bereitgestellt werden können, offenbart.

In DE 43 23 913 werden Sorbentien für die hydrophobe Interaktionschromatographie beschrieben.

10

Chirale Trennmaterialien für die Trennung von Enantiomeren sind in großer Anzahl im Stand der Technik bekannt. Es handelt sich ausschließlich um partikuläre Trennmaterialien. Die bekannten chiralen Trennmaterialien bestehen entweder aus der chiralen Verbindung selbst (zum Beispiel Cellulosetriacetat) oder aber ein chiraler Separationseffektor ist auf einen Träger aufgezogen oder chemisch an einen Träger gebunden (z.B. chemisch gebundene Aminosäurederivate). Außerdem ist es möglich, chirale Separationseffektoren, die mit einer stationären Phase in Wechselwirkung treten, im Elutionsmittel zuzusetzen (dynamische Belegung mit z.B. Cyclodextrinen).

15

20

Chirale Separationseffektoren sind in großer Zahl bekannt; die wichtigsten Gruppen bekannter chiraler Separationseffektoren sind:

25

a) Aminosäuren und ihre Derivate, z.B. L-Phenylalanin, oder D-Phenylalanin, Ester oder Amide von Aminosäuren oder acylierte Aminosäuren oder Oligopeptide;

30

b) natürliche und synthetische Polymere mit einer Asymmetrie oder Dissymmetrie in der Hauptkette; dazu gehören Proteine (z.B. saures  $\alpha_1$ -Glycoprotein, Rinderserumalbumin, Cellulase; siehe J. Chrom. **264**, Seiten 63 -68 (1983), J. Chrom. **269**, Seiten 71 - 80 (1983), WO 91/12 221), Cellulose und Cellulosederivate, sowie andere Polysaccharide und deren Derivate (z.B. Cellulosetribenzoat, Cellulosetribenzylether,

Cellulose-trisphenylcarbamat, Cellulose-tris-3-chlorobenzoat, Amylose-tris-(3,5-dimethylphenylcarbamat), Cellulose-tris-(3,5-dimethylbenzoat), Cellulose-tris-(3,5-dimethylphenylcarbamat); siehe EP 0 147 804, EP 0 155 637, EP 0 718 625);

- 5 c) Cyclodextrine und seine Derivate (z.B. J. High Resol.Chrom. & Chromat. Comm. 3, Seiten 147 - 148 (1984); EP 0 407 412; EP 0 445 604);
- d) Polymere mit Asymmetriezentren in der Seitenkette (z.B. EP 0 249 078; EP 0 282 770; EP 0 448 823).
- 10 e) Polymere, die Hohlräume aufweisen, wobei die Hohlräume ein Abdruck des Analyten darstellen (imprinted polymers; WO 93/09 075).

Die enantiomerenrein vorliegenden chiralen Separationseffektoren können an einen geeigneten Basisträger, gegebenenfalls nach Derivatisierung adsorbiert werden. Es ist auch möglich, die enantiomerenrein vorlie-

15 den chiralen Separationseffektoren, gegebenenfalls nach Einführung geeigneter funktioneller Gruppen, an den Basisträger zu binden. Für diesen Zweck können auch bifunktionelle Reagenzien verwendet werden. Für diese Verfahrensvarianten geeignete Umsetzungen sind dem Fachmann bekannt und sind in gängigen Handbüchern beschrieben.

20

In den Beispielen sind erfindungsgemäß geeignete Formkörper mit chiralen Separationseffektoren genannt.

25

30

Weitere Einzelheiten der Herstellung der verschiedenen Sorbentien und deren Verwendung können den oben genannten Druckschriften entnommen werden; die diesbezügliche Offenbarung dieser Druckschriften ist durch Bezugnahme in die vorliegende Anmeldung eingeführt.

5

Die oben genannten monolithischen Sorbentien können in Vorrichtungen zur Stofftrennung enthalten sein, die sich im wesentlichen wie chromatographische Säulen handhaben lassen. Dabei können die bekannten Trennverfahren angewandt werden: batch-Verfahren, kontinuierliche Verfahren, wie z.B. das simulated moving bed (SMB) Verfahren, oder andere Gegenstromverfahren, wie sie beispielsweise in US 5,630,943 offenbart werden.

10

15

Es wurde gefunden, daß bei Verwendung dieser bevorzugten Sorbentien die Flußgeschwindigkeit über einen weiten Bereich variiert werden kann, ohne daß die Trenneigenschaften dabei verschlechtert werden. Unter Ausnutzung dieser Eigenschaft ist es möglich, die Flußgeschwindigkeit an das Elutionsprofil anzupassen, ohne daß die Trennleistung verringert wird.

20

Dadurch kann der Zeitbedarf der Trennung stark reduziert werden. Insbesondere für präparative Trennungen ergeben sich somit große Vorteile. Für die Anwendung des SMB-Verfahrens ist auch der geringe Druckabfall bei hoher Flußgeschwindigkeit relevant, da bei diesem Verfahren eine Anzahl Säulen hintereinander geschaltet werden. Durch Variation der Flußgeschwindigkeit (Flußgradient) ist es außerdem möglich, das Auflösungsvermögen dem Trennproblem anzupassen (siehe Beispiel B11).

25

Auch ohne weitere Ausführungen wird davon ausgegangen, daß ein Fachmann die obige Beschreibung im weitesten Umfang nutzen kann. Die bevorzugten Ausführungsformen und Beispiele sind deswegen lediglich als

30

beschreibend , keineswegs als in irgendeiner Weise limitierende Offenbarung aufzufassen.

5 Die vollständige Offenbarung aller vor- und nachstehend aufgeführten Anmeldungen, Patente und Veröffentlichungen, sowie der korrespondierenden Anmeldungen DE 197 25 639.2, eingereicht am 18.06.1997, DE 197 26 151.5, eingereicht am 20.06.1997, DE 197 26 152.3, eingereicht am 20.06.1997, und DE 198 01 575.5, eingereicht am 19.01.1998, sind durch Bezugnahme in diese Anmeldung eingeführt.

10

### **Beispiele:**

15 Die folgende Beispiele soll die Erfindung verdeutlichen; sie bedeuten keine Einschränkung des Erfindungsgedankens.

Im folgenden wird unter Raumtemperatur eine Temperatur zwischen 15 und 30 °C verstanden.

20

### **A      Herstellungsbeispiele**

#### **Herstellungsbeispiel A1:    Herstellung eines mit einer C<sub>18</sub>-reversed phase modifizierten monolithischen Sorbens**

25 Ein poröser Formkörper (83 \* 7,2 mm; 2 µm Porenweite) bestehend aus SiO<sub>2</sub> hergestellt nach PCT/EP97/06 980 wird nach Standardverfahren mit Methyloctadecyldichlorsilan als Silanderivat umgesetzt und anschließend einer endcapping Reaktion unterworfen; dabei werden die Reaktionslösungen durch den Formkörper gepumpt.

30

Es wird ein RP-18 modifiziertes monolithisches Trennmaterial erhalten. In analoger Weise werden RP-18-modifizierte monolithische Trennmaterialien

der Abmessungen 93 x 25 mm, deren Makroporen 2 beziehungsweise 6 µm Durchmesser (Medianwerte) aufweisen, erhalten.

5      **Herstellungsbeispiel A2:    Herstellung eines mit Aminogruppen  
modifizierten monolithischen Sorbens**

Ein poröser Formkörper (83 \* 7,2 mm, 2 µm Porenweite), hergestellt nach  
PCT/ EP97/06 980, wird nach Standardverfahren durch Hindurchpumpen  
von einer Lösung von Aminopropyltrimethoxysilan in Toluol zu einem mit  
10      Aminogruppen modifizierten Sorbens umgesetzt.

15      **Herstellungsbeispiel A3:    Herstellung eines mit (R)-(-)-N-(2,4-Dinitro-  
benzoyl)phenylglycin modifizierten monolithischen  
Sorbens (Pirkle-type modifiziertes chirales Sorbens)**

Der nach Beispiel A2 hergestellte mit Aminogruppen derivatisierte poröse  
Formkörper wird weiter umgesetzt, indem eine Lösung von (R)-(-)-N-(2,4-  
Dinitrobenzoyl)phenylglycin und N-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydro-  
chinolin (EEDQ) in Toluol durchgepumpt wird. Es wird ein chirale Sorbens  
20      erhalten.

25      **Herstellungsbeispiel A4:    Herstellung eines mit N-Acryloyl-L-phenyl-  
alaninethylester als Monomereinheiten modifizierten  
monolithischen Sorbens**

Ein poröser Formkörper (83 \* 7,2 mm; 2 µm Porenweite), hergestellt nach  
EP 0 710 219, wird durch Hindurchpumpen von a) einer Lösung von 3-  
Glycidyloxypropyltrimethoxysilan in Toluol und b) einer Lösung von N-  
Acryloyl-L-phenylalaninethylester in Toluol unter Zusatz von Azoiso-  
30      butyronitril (AIBN) zu einem chiral modifizierten Sorbens umgesetzt.

Es wird ein modifizierter monolithischer Formkörper erhalten, an dem als Separationseffektoren kovalent gebundene L-Phenylalaninethylester-Gruppen vorliegen.

5

**Herstellungsbeispiel A5: Herstellung eines chiralen monolithischen Sorbens, an das  $\beta$ -Cyclodextrin chemisch gebunden ist**

10

Ein poröser Formkörper, hergestellt nach PCT/EP97/06 980, wird analog zu der Beschreibung von Beispiel 2 aus EP 0 445 604 mit einer Reaktionslösung aus  $\beta$ -Cyclodextrin, Chlorameisensäure-p-nitrophenylester und 3-(2-Aminoethyl)aminopropyltrimethoxysilan zu einem chiralen Sorbens mit chemisch gebundenem  $\beta$ -Cyclodextrin umgesetzt. Dazu wird die Reaktionslösung durch den Formkörper gepumpt.

15

Es wird ein modifizierter monolithischer Formkörper erhalten, an dem  $\beta$ -Cyclodextrin chemisch gebunden vorliegt.

**B Anwendungsbeispiele**

20

**Anwendungsbeispiel B1: Trennung von Toluol, 2-Nitroacetanilid und 3-Nitroacetanilid an monolithischen Sorbentien mit verschiedenen Durchmesser der Makroporen**

25

Poröse monolithische Formkörper aus  $\text{SiO}_2$  ( $83 \times 7,2$  mm) mit unterschiedlichen Durchmesser der Makroporen (2 und 6  $\mu\text{m}$ ) wurden nach PCT/EP97/06 980 hergestellt. Eine Lösung von Toluol, 2- und 3-Nitroacetanilid wird aufgetragen und in Heptan/Dioxan 80 : 20 als Laufmittel getrennt (Flußrate: 8 ml/min; UV-Detektion).

30

Die Elutionsdiagramme sind in den Abbildungen 1 (2  $\mu\text{m}$  Porenweite) und 2 (6  $\mu\text{m}$  Porenweite) dargestellt.

**Anwendungsbeispiel B2: Trennung von Dimethylphthalat und  
Dibutylphthalat an einem mit einer C<sub>18</sub>-reversed phase  
modifizierten monolithischen Sorbens**

5

Eine Lösung von Dimethylphthalat und Dibutylphthalat wird auf eine Säule mit einem monolithischen Sorbens hergestellt nach Beispiel A1 aufgetragen und in Methanol/Wasser 90 : 10 als Laufmittel getrennt (Flußrate 4 ml/min; UV-Detektion).

10

Die Substanzen werden getrennt eluiert.

**Anwendungsbeispiel B3: Trennung an einem mit Aminogruppen  
modifizierten monolithischen Sorbens**

15

Eine Lösung von Xylose, Fructose, Glucose und Saccharose werden auf dem auf dem mit Aminopropyltrimethoxysilan modifizierten Sorbens hergestellt nach Beispiel A2 aufgetragen und mit Acetonitril/Wasser 80:20 als Flußmittel aufgetrennt (Flußrate 4 ml/min; RI-Detektion).

20

Die Saccharide werden getrennt eluiert.

25

30



**Anwendungsbeispiel B4: Trennung an einem mit (R)-(-)-N-(2,4-Dinitrobenzoyl)phenylglycin modifizierten monolithischen Sorbens (Pirkle-type modifiziertes chirales Sorbens)**

5 Die Enantiomeren von 2,2,2-Trifluor-1-anthrylethanol werden auf dem nach Beispiel A3 hergestellten chiralen Pirkle-type Sorbens in Heptan/i-Propanol 99,5 : 0,5 getrennt (Flußrate: 8 ml/min; UV-Detektion).

Das Elutionsdiagramm ist in Abbildung 3 dargestellt.

10

**Anwendungsbeispiel B5: Trennung an einem mit N-Acryloyl-L-phenylalaninethylester als Monomereinheiten modifizierten monolithischen Sorbens**

15 Die Enantiomeren von Chlorthalidon werden auf dem nach Beispiel A4 hergestellten chiralen Sorbens getrennt (Bedingungen: Heptan/Dioxan 50 : 50; 4 ml/min; UV-Detektion).

20

**Anwendungsbeispiel B6: Trennung von racemischem Cromakalim an einem chiralen Sorbens, das  $\beta$ -Cyclodextrin chemisch gebunden enthält**

Ein entsprechend Beispiel A5 hergestellter modifizierter monolithischer Formkörper (83 x 7,2 mm) wird als Sorbens verwandt und racemisches Cromakalim unter folgenden Bedingungen aufgetrennt:

25

Probe: Cromakalim (0,2 mg/ml in Ethanol)

Injektionsvolumen: 5  $\mu$ l

Eluent: Methanol/Wasser (20/80; v/v)

Temperatur: Raumtemperatur

30

Fluß: 1,0 ml/min

Detektion: 254 nm

Das Elutionsdiagramm ist in Abbildung 4 dargestellt.

**Anwendungsbeispiel B7: Trennung von racemischen Chlorthalidon**

**5 mit dynamischer  $\beta$ -Cyclodextrinbelegung**

Ein entsprechend Beispiel A1 hergestellter modifizierter monolithischer

Formkörper (RP-18; 83 x 7,2 mm) wird als Sorbens verwandt und

racemisches Chlorthalidon unter folgenden Bedingungen aufgetrennt:

	Probe:	Chlorthalidon (0,44 mg/ml)
10		Injektionsvolumen: 5 $\mu$ l
	Eluent:	Methanol/wäßrige 25 mM Natriumphosphatlösung (pH 2) mit 10 mM $\beta$ -Cyclodextrin (20/80; v/v)
	Temperatur:	Raumtemperatur
	Fluß:	1,0 ml/min
15	Detektion:	254 nm

Die Enantiomeren werden getrennt eluiert.

**20 Anwendungsbeispiel B8: Trennung von racemischen Prominal mit**

**dynamischer  $\beta$ -Cyclodextrinbelegung**

Ein entsprechend Beispiel A1 hergestellter modifizierter monolithischer

Formkörper (RP-18; 83 x 7,2 mm) wird als Sorbens verwandt und

racemisches Prominal unter folgenden Bedingungen aufgetrennt:

25	Probe:	Prominal (0,55 mg/ml)
		Injektionsvolumen: 5 $\mu$ l
	Eluent:	Methanol/wäßrige 25 mM Natriumphosphatlösung (pH 2) mit 10 mM $\beta$ -Cyclodextrin (20/80; v/v)
	Temperatur:	Raumtemperatur
30	Fluß:	1,0 ml/min
	Detektion:	254 nm

Die Enantiomeren werden getrennt eluiert.

**5      Anwendungsbeispiel B9:   Trennung von Toluol, 2-Nitroacetanilid und  
3-Nitroacetanilid bei verschiedenen Fließgeschwindig-  
keiten**

10      Eine Probe enthaltend Toluol, 2-Nitroacetanilid und 3-Nitroacetanilid wird  
bei unterschiedlichen Fließgeschwindigkeiten der mobilen Phase getrennt:

Bedingungen:

Sorbens:            monolithisches Sorbens (SiO<sub>2</sub>; 93 \* 25 mm)  
(hergestellt nach PCT/ EP97/06 980)

15      mobile Phase:    n-Heptan/Dioxan (90/10; v/v)

Probenvolumen:   40 µl

Detektion:        UV 254 nm

Flußrate:         40, 130, 200 ml/min

20

	Abb. 5a	Abb. 5b	Abb. 5c
Flußrate [ml/min]	40	130	200
Bodenzahl [N] 2-Nitroacetanilid	503	524	495
Bodenzahl [N] 3-Nitroacetanilid	465	465	445
25      Druck [bar]	9	35	55

Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 5a - 5 c) zusammengefaßt. Die  
übliche Fließgeschwindigkeit einer Säule der Dimension 25 mm Durch-  
messer, die mit partikulären Teilchen gepackt ist, beträgt 40 ml/min. Die  
nichtpartikulären Träger lassen somit eine wesentlich höhere Betriebs-  
30      geschwindigkeit zu, was zu deutlich verbesserter Ökonomie der Trenn-  
aufgaben führt.

**Anwendungsbeispiel B10: Ermittlung der Prozeßparameter für eine  
SMB-Trennung von Dimethylphthalat und Dibutylphthalat**

Dimethylphthalat und Dibutylphthalat werden in verschiedenen Mengen  
aufgetragen und getrennt (siehe Fig. 6):

5

Bedingungen:

Sorbens: monolithisches Sorbens (C<sub>18</sub>-RP-derivatisiertes SiO<sub>2</sub>;  
93 \* 25 mm; hergestellt nach PCT/ EP97/06 980,  
entsprechend Beispiel A2 modifiziert)

10 mobile Phase: Methanol/Wasser (80/20; v/v)

Probenvolumen: 50, 100 300, 600 µl

Detektion: UV 300 nm

Flußrate: 40 ml/min

15 Für die Komponenten A (Dimethylphthalat) und B (Dibutylphthalat) wurden  
folgende modifizierten Langmuir-Isothermen gefunden:

$$\bar{C}_A = 1,1 \cdot C_A + \frac{0,0735 \cdot C_A}{1 + 0,000735 \cdot C_A + 0,0175 \cdot C_B}$$

20 
$$\bar{C}_B = 1,1 \cdot C_B + \frac{1,75 \cdot C_B}{1 + 0,000735 \cdot C_A + 0,0175 \cdot C_B}$$

Aus den ermittelten Isothermen wurden nach dem in R.M.Nicoud,  
F.Charton, J.Chromatogr. 702 (1995) 97 beschriebenen Verfahren mit Hilfe  
25 der Simulationssoftware HELP die Trennbedingungen für die SMB-  
Trennung bestimmt:

30

Säulendimension [mm]	93 * 25
Anzahl Säulen	8
Flußrate Feed [ml/min]	1,9

5

Feedkonzentration [g/l]	320 +320
Flußrat Recycling [ml/min]	44,1
Flußrate Raffinat [ml/min]	2,9
Flußrate Extrakt [ml/min]	21,8
Zyklussschaltzeit [min]	2,24
Konzentration Raffinat [g/l]	209,7
Konzentration Extrakt [g/l]	27,89
Reinheiten Raffinat/Extrakt	> 99,9

10

### **Anwendungsbeispiel B11: Trennung verschiedener Vitamine der Vitamin K Gruppe**

15

Eine Mischung von Vitaminen der K-Gruppe, die die Vitamine K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, K<sub>3</sub> und K<sub>4</sub> enthält, wird in Acetonitril-Wasser (95:5; v:v) gelöst. 10 µl dieser Lösung werden auf eine monolithische Säule (Kieselgel, Modifikation RP-18; 83 x 7,2 mm) aufgetragen. Anschließend wird ein Flußgradient angewandt:

20

Minuten	Flußrate (ml/min)
0,0 - 1,5	3,0
1,5 - 3,0	3,0 - 9,5
3,0 - 8,0	9,5

25

Das Elutionsdiagramm ist in Abbildung 7 a) dargestellt (Detektion UV bei 280 nm).

30

Zum Vergleich ist in Abbildung 7 b) ein Elutionsdiagramm bei konstanter Flußrate (1 ml/min) dargestellt (Sorbens wie oben). In Abbildung 7 c) ist als weiterer Vergleich das Elutionsdiagramm unter Verwendung eines partikulären Sorbens (LiChrospher RP 18; 1 ml/min) dargestellt.

**C Vergleichsbispiel**

**Vergleichsbeispiel C1: Vergleich der Trennung an einem  
partikulären Sorbens mit der Trennung an einem  
monolithischen Sorbens**

5

Die Produktivität eines LiChrospher® Si 100 15 µm Sorbens wird mit der eines monolithischen Sorbens hergestellt nach PCT/EP97/06 980 verglichen. Das monolithische Sorbens weist genau wie das handelsübliche partikuläre Sorbens LiChrospher® Mesoporen mit 10 nm Porenweite auf. Die Partikelgröße des LiChrospher® Si100 beträgt 15 µm. Das monolithische Sorbens weist eine Skeleton size von 1,5-2 µm und Makroporen von 6 µm auf.

10

15

Für das partikuläre Sorbens wurden folgende Kenndaten gefunden:

$$\frac{\Delta P}{L}(\text{bar} / \text{m}) = 26540 * u(\text{m} / \text{sec})$$

$$H(m) = 0,03657 * u(\text{m} / \text{sec}) + 5,5 \cdot 10^{-5} \quad \text{für } u > 2 \cdot 10^{-3} \text{ m} / \text{sec}$$

20

Für das monolithische Sorbens wurden folgende Kenndaten gefunden:

$$\frac{\Delta P}{L}(\text{bar} / \text{m}) = 8500 * u(\text{m} / \text{sec})$$

$$H(m) = 0,00403 * u(\text{m} / \text{sec}) + 1,8 \cdot 10^{-5} \quad \text{für } u > 2 \cdot 10^{-3} \text{ m} / \text{sec}$$

25

Die beste Produktivität ist erreicht, wenn man gerade bei der gewünschten Bodenzahl bei maximalem Druckabfall arbeitet. Die optimale Fließmittelschwindigkeit und Säulenlänge sind dann :

30

5

	partikuläres Sorbens (LiChrospher® Si 100 15µm)	monolithisches Sorbens (6µm Poren- durchmesser)
Fließmittelgeschwindigkeit (cm/min)	23,1	132,4
Säulenlänge (cm)	98,0	53,3

10

Die Geschwindigkeit ist dann auf dem partikulären Sorbens 5,7mal größer. Die Produktivität (g/Tag) ist dann für denselben Säulendurchmesser vierfach erhöht. Da die erforderliche Säulenlänge kürzer ist, ist die relative Produktivität (g/Tag/L stationäre Phase) um den Faktor 10,5 erhöht.

15

20

25

30

**Anspruch**

- 5           1.    Verfahren zur präparativen chromatographischen Trennung  
              mindestens zweier Substanzen, dadurch gekennzeichnet, daß die  
              Stofftrennung unter Verwendung monolithischer Sorbentien auf der  
              Grundlage von Formkörpern aus SiO<sub>2</sub>, deren Makroporen Durch-  
              messer zwischen 2 und 20 µm aufweisen, und deren Mesoporen  
              Durchmesser zwischen 2 und 100 nm aufweisen (jeweils Median-  
              werte), erfolgt.
- 10           2.    Verfahren nach Anspruch 1, weiterhin dadurch gekennzeichnet, daß  
              die chromatographische Trennung im batch-Verfahren ausgeführt  
              wird.
- 15           3.    Verfahren nach Anspruch 1, weiterhin dadurch gekennzeichnet, daß  
              die chromatographische Trennung in einem kontinuierlichen  
              Verfahren ausgeführt wird.

20

25

30



1/5

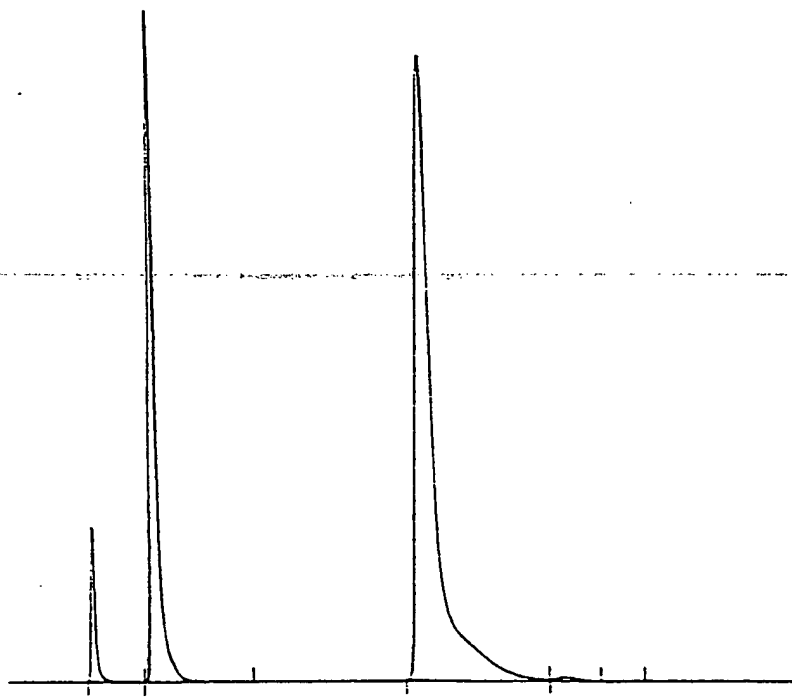


Fig. 1

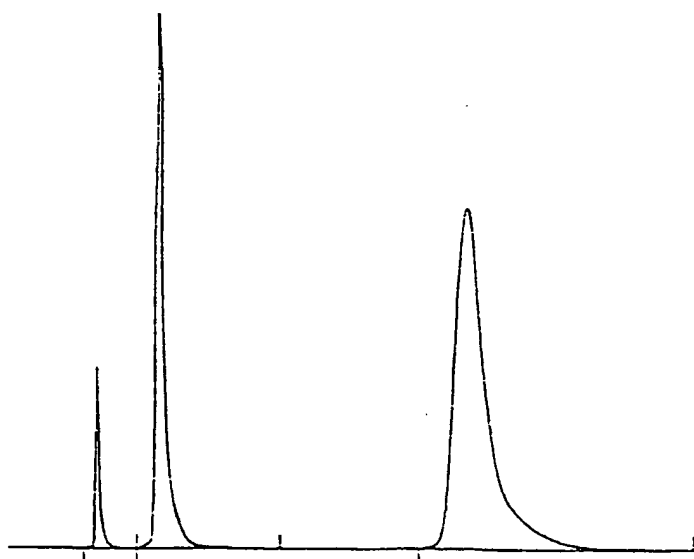


Fig. 2

2/5

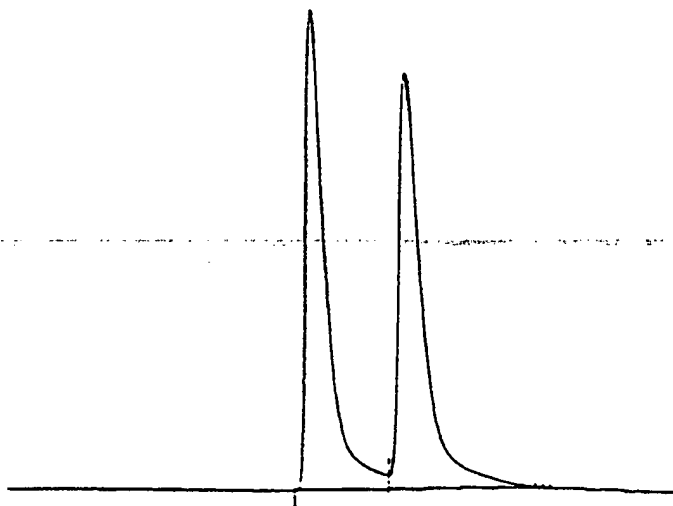


Fig. 3

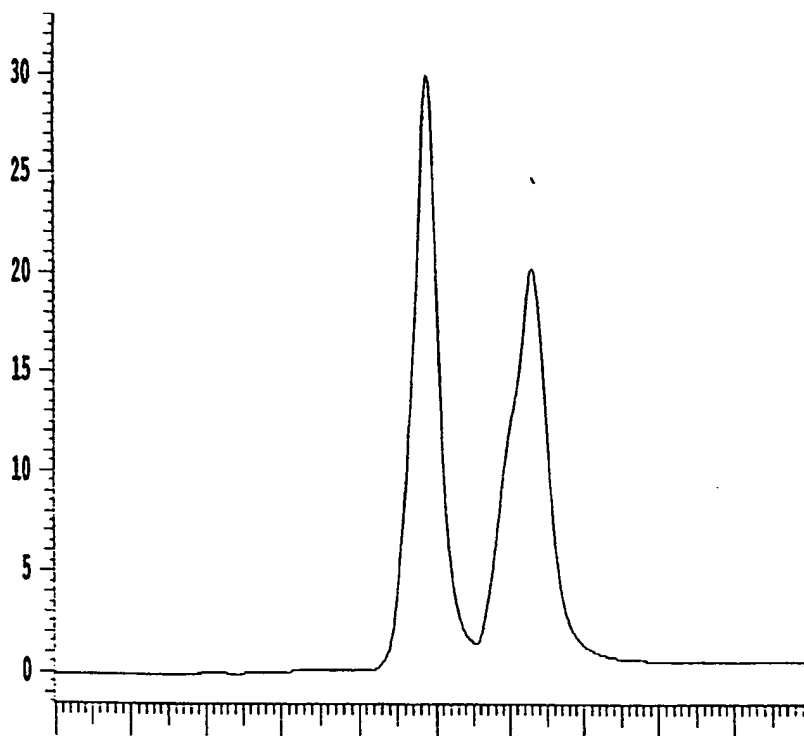
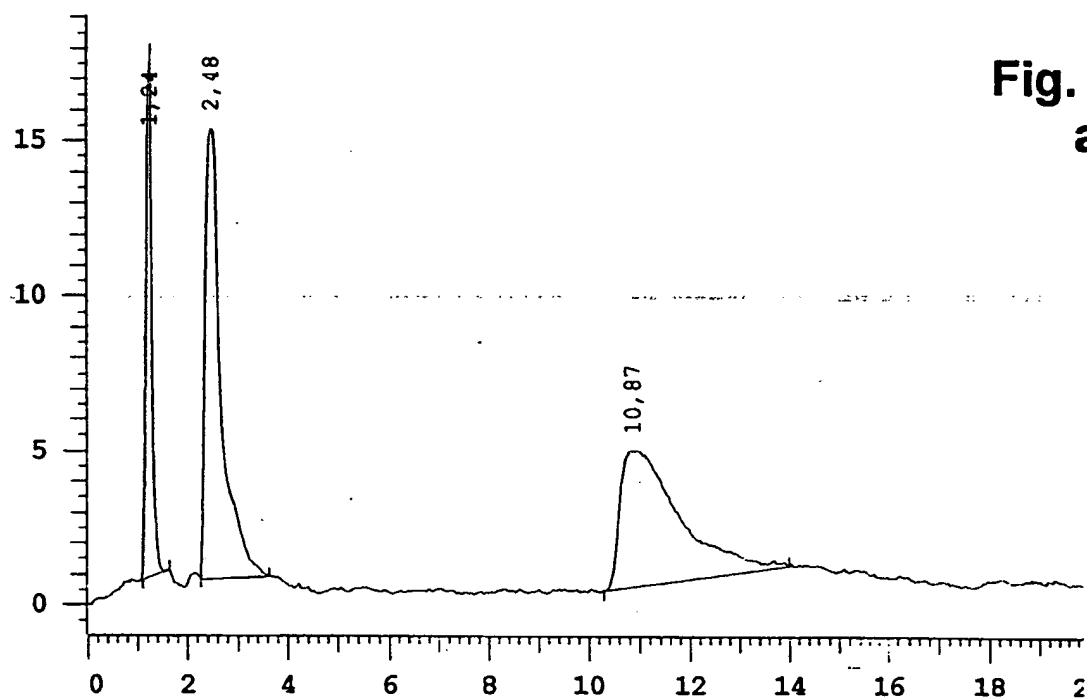
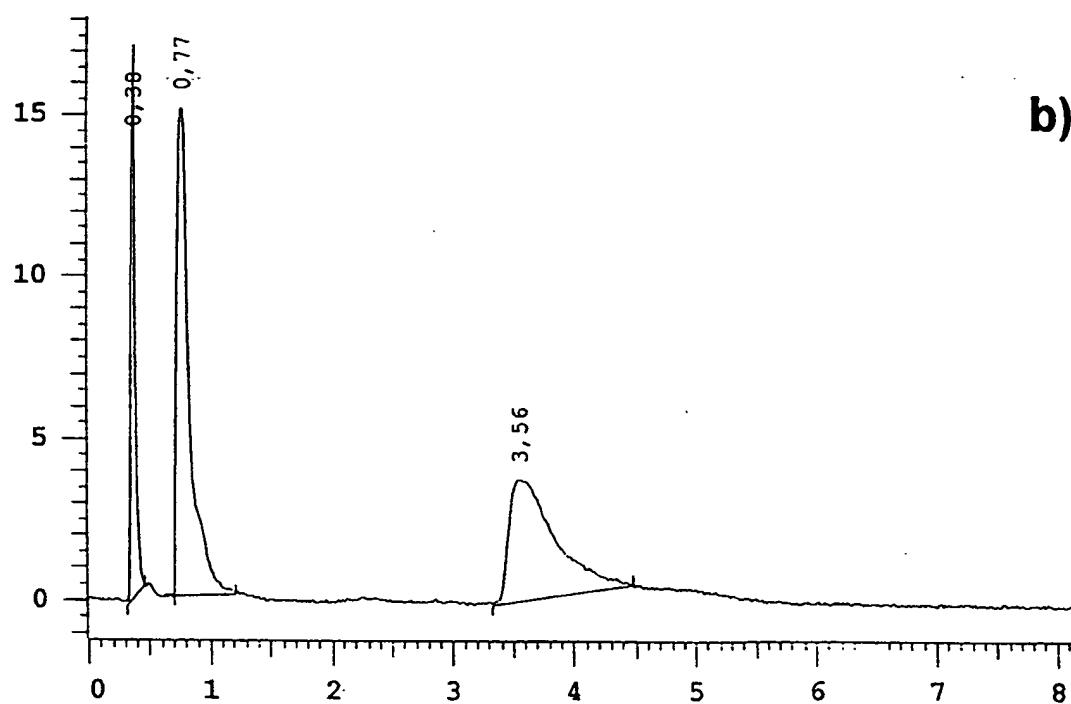


Fig. 4

3/5

**Fig. 5**  
**a)****b)**

4/5

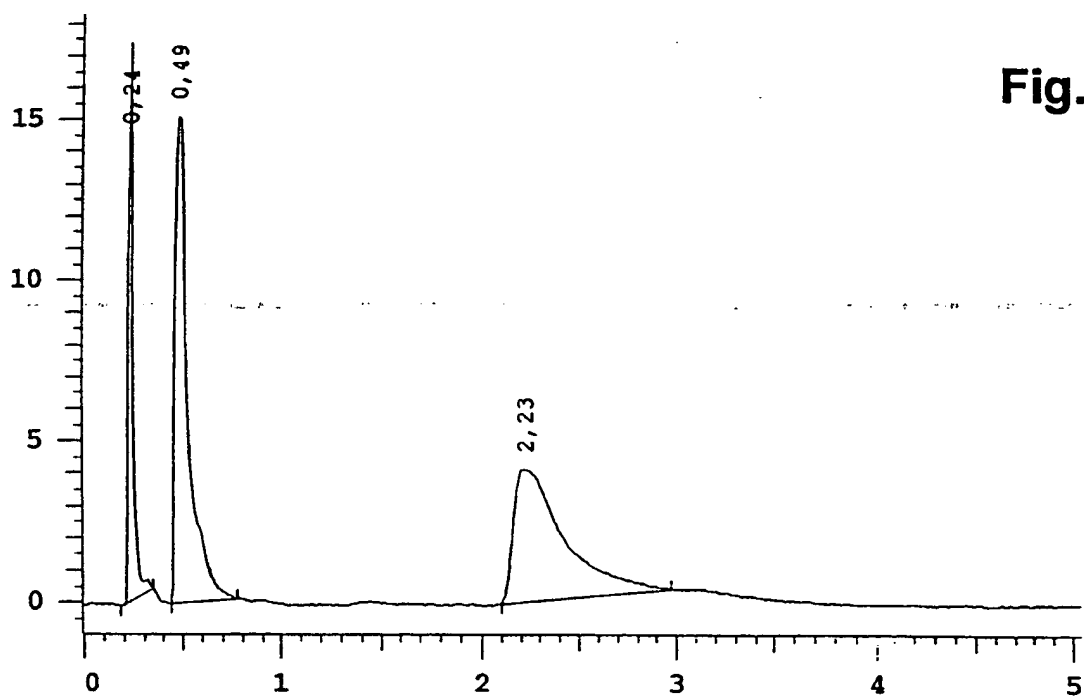
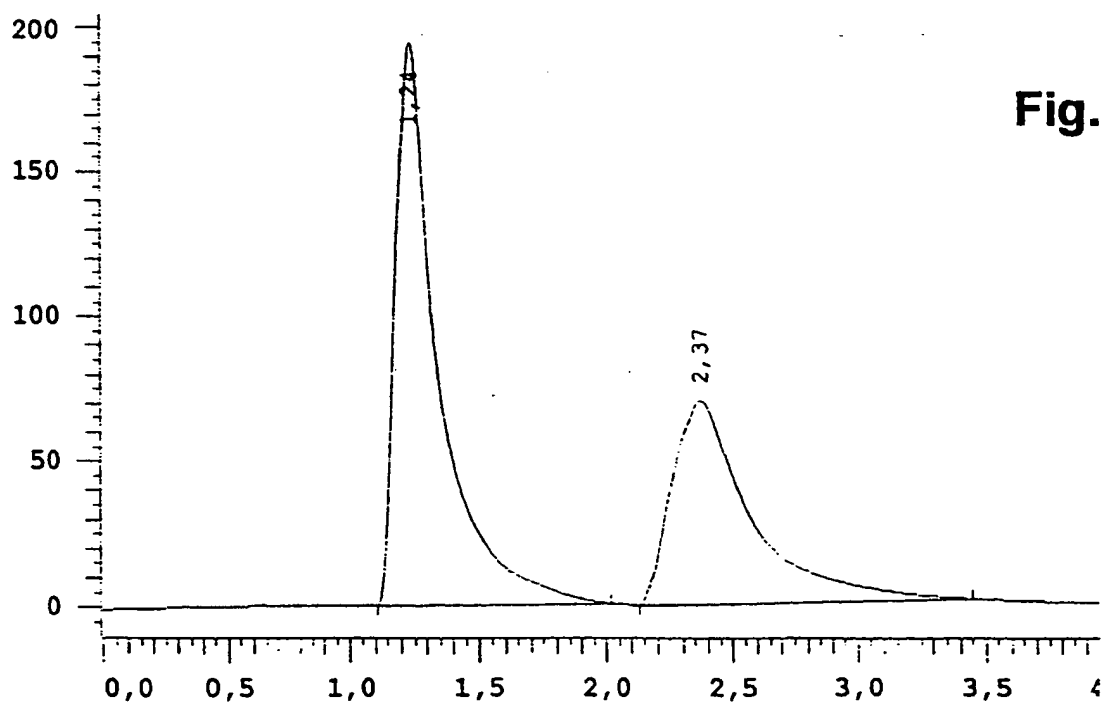
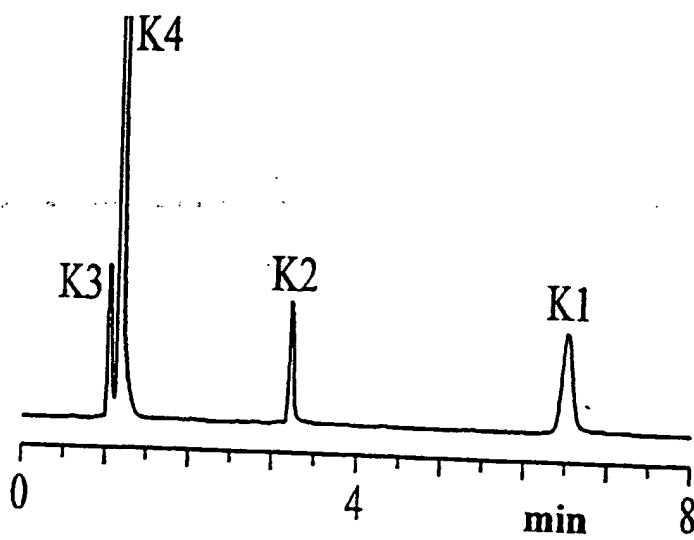
Fig. 5  
c)

Fig. 6

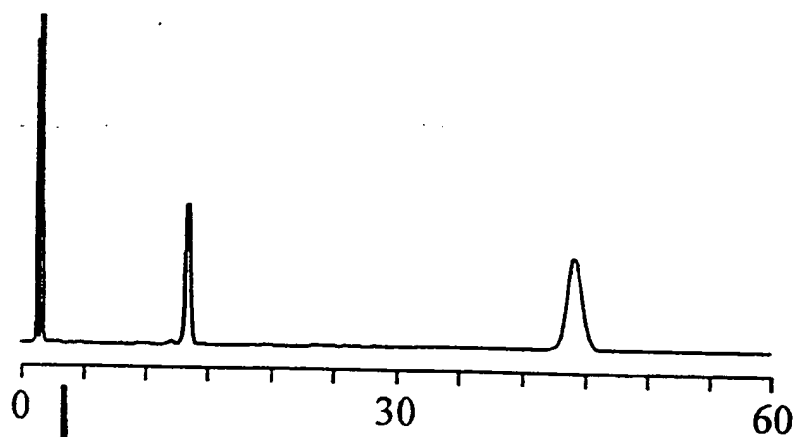
5/5

Fig. 7

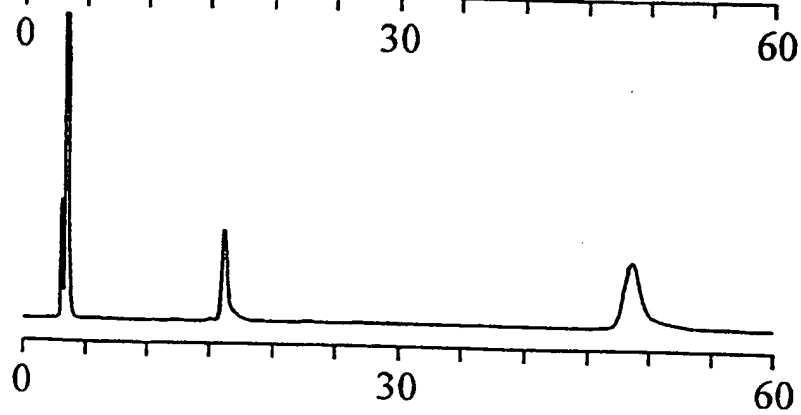
a)



b)



c)



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/03546

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 G01N30/48 B01D15/08 B01D15/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 G01N B01D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MINAKUCHI H ET AL: "Effect of skeleton size on the performance of octadecylsilylated continuous porous silica columns in reversed-phase liquid chromatography" JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A, vol. 762, no. 1, 21 February 1997, page 135-146 XP004056545 see the whole document	1,2
A	US 5 399 535 A (WHITMAN) 21 March 1995 see column 8; examples 1,2 see column 11; example 10	1,2
A	WO 95 03256 A (MERCK PATENT) 2 February 1995 cited in the application see page 3, line 1 - page 5, line 19	1,2

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 October 1998

Date of mailing of the international search report

30/10/1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Wendling, J-P

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/03546

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5399535 A	21-03-1995	CA 2129769 A	18-02-1995
		EP 0639544 A	22-02-1995
		JP 7187846 A	25-07-1995
		ZA 9405821 A	17-02-1995
WO 9503256 A	02-02-1995	JP 6265534 A	22-09-1994
		JP 7041374 A	10-02-1995
		DE 69407295 D	22-01-1998
		DE 69407295 T	25-06-1998
		EP 0710219 A	08-05-1996
		US 5624875 A	29-04-1997

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/03546

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 G01N30/48 B01D15/08 B01D15/02

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 G01N B01D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>2</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	MINAKUCHI H ET AL: "Effect of skeleton size on the performance of octadecylsilylated continuous porous silica columns in reversed-phase liquid chromatography" JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A, Bd. 762, Nr. 1, 21. Februar 1997, Seite 135-146 XP004056545 siehe das ganze Dokument	1,2
A	US 5 399 535 A (WHITMAN) 21. März 1995 siehe Spalte 8; Beispiele 1,2 siehe Spalte 11; Beispiel 10	1,2
A	WO 95 03256 A (MERCK PATENT) 2. Februar 1995 in der Anmeldung erwähnt siehe Seite 3, Zeile 1 - Seite 5, Zeile 19	1,2

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

<sup>2</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

20. Oktober 1998

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

30/10/1998

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Wendling, J-P



**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/03546

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5399535 A	21-03-1995	CA 2129769 A	18-02-1995
		EP 0639544 A	22-02-1995
		JP 7187846 A	25-07-1995
		ZA 9405821 A	17-02-1995
WO 9503256 A	02-02-1995	JP 6265534 A	22-09-1994
		JP 7041374 A	10-02-1995
		DE 69407295 D	22-01-1998
		DE 69407295 T	25-06-1998
		EP 0710219 A	08-05-1996
		US 5624875 A	29-04-1997